

## 식품 및 용기 중 스티렌 다이머 및 트리머의 분석법

성준현 · 권기성\* · 이광호

식품의약품안전청 용기포장과, 식품의약품안전청 식품오염물질과\*

### A Method for Analysis of Styrene Dimer and Trimer in Foods and Containers

Jun-Hyun Sung, Kisung Kwon\* and Kwang-Ho Lee

Food Packaging Division, Korea Food & Drug Administration

\*Food Contaminant Division, Korea Food & Drug Administration

#### Abstract

A method for quantitative determination of styrene dimer and trimer, which are suspected as endocrine disruptors, in foods and containers was studied. For residual contents of styrene dimer and trimer in two kinds of containers, which contained instant noodle and yogurt, sample pieces were completely dissolved in tetrahydrofuran. The polymer was precipitated with n-hexane, a portion of supernatant was concentrated for analysis. A sensitive method was also optimized for the quantification of styrene dimer and trimer in foods such as instant cup noodle and yogurt by using GC/MS. Limits of Detection were about 3.2-87.0 ppb for styrene dimers and trimers. The highest recovery was obtained by extraction with acetone/hexane(1:1), followed by florisil clean-up. The levels of styrene dimer and trimer migrated by food simulants were much higher in heptane.

Key words : styrene dimer & trimer, cup noodle, yogurt, endocrine disruptors

#### 서 론

Polystyrene은 가격이 저렴하고 가공이 용이하여 그 응용범위가 넓은 고분자이다. Polystyrene에는 styrene 단독 중합체인 범용성 polystyrene(GPPS) 이외에도, 일정량 butadiene 고무를 첨가한 내충격성 polystyrene (HIPS), 발포제를 이용한 발포 polystyrene(EPS)등이 있다<sup>(1)</sup>. GPPS는 충격에 약하고 내유성이 떨어지는 반면, 투명성이 우수하고 무취, 무미, 내수성이 뛰어나 일회용 컵, 도시락, 야채팩 등의 용기로 사용되고 있다. HIPS는 투명성은 없으나 내충격성이 보완되어 일회용 컵이나 유산음료, 요구르트, 두부 등의 식품용기에 사용된다. 한편 EPS는 단열성이 우수하여 컵라면 용기 등으로 널리 사용되고 있다.

Polystyrene은 styrene을 중합하여 얻어지며, 그 과정

에서 100% 중합이란 사실상 불가능하므로 최종 산물에는 원료인 styrene monomer 뿐만 아니라 dimer, trimer를 비롯해 수많은 oligomer들이 존재하게 된다. 이러한 저분자량체들은 재질이 식품과 접촉했을 때 일부 식품으로 이행할 가능성이 우려되고<sup>(2,5)</sup>, 그 중에서도 특히 styrene dimer와 trimer는 분자 구조가 내분비 생식호르몬인 estrogen과 비슷하기 때문에 인체에 축적 시 내분비 교란효과가 의심되고 있다. 현재 일본 의약품식품위생연구소와 미국 일리노이 환경보호청에서는 이들을 내분비계 장애 추정물질<sup>(6)</sup>로 지정하고 있으나, 아직까지 그 위해성에 대한 확실한 결론은 내리지 않은 상태이고, 인체의 노출 정도 또한 정확한 평가가 이루어지지 못한 실정이다<sup>(7)</sup>.

Polystyrene 잔류물에 대한 분석은 거의 모든 식품용 polystyrene 제품에서 GC chromatogram 상의 어느 것에 대해서도 지극히 유사한 미지 피크 군이 검출된다는 사실 때문에 관심이 집중되기 시작하였다. 일본의 Kawamura등<sup>(8)</sup>은 GC/MS와 NMR을 이용하여 이들을 동정하고, 각각이 4종의 dimer와 7종의 trimer임을 보고한 바 있다. Styrene dimer와 trimer에 대한 식품으

Corresponding author : Kisung Kwon, Food Contaminants Division, Korea Food & Drug Administration 5 Nokbun-Dong, Eunpyoung-Ku, Seoul, Korea  
Tel : 82-2-380-1670-2  
Fax : 82-2-382-4892  
E-mail : kisungk@kfda.go.kr

로의 이행량 평가에 있어서는 아직까지 시판되는 표준품이 없는 관계로 GC-FID 상에서 반응정도가 유사한 다른 화합물을 이용해 정량을 시도한 예가 있을 뿐이다<sup>(9-11)</sup>. 그러나 다양한 matrix와 방해물질로 인해 식품 중 이들 물질을 저농도(ppb 수준)까지 분석하는 것은 매우 어려운 실정이다. 현재 국내에서도 공인된 분석 방법이 없으므로 이와 같이 극미량에서도 그 작용을 나타내는 것으로 논란이 되고있는 내분비계 장애 물질에 대한 보다 높은 감도와 재현성을 갖는 정립된 실험방법이 절실히 요구되는 실정이다.

본 연구에서는 polystyrene 재질 자체와 그것으로 포장된 대표식품인 컵라면과 요구르트에 대하여 GC 및 GC/MS를 이용하여, styrene dimer와 trimer를 미량 분석할 수 있는 범용적인 방법을 확립하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

본 실험은 polystyrene 용기의 재질에 따라 EPS와 HIPS 두 종류로 나누어 실시하였다. 각 재질을 대표하는 검체로 전자의 경우 컵라면과 후자의 경우 요구르트를 선택하였으며, 모두 시중에 유통 중인 제품을 인근 편의점에서 구입하여 사용하였다.

표준물질로는 동경화성공업(주)의 1급시약 1,3-diphenylpropane(1,3-DP)과 benzyl-n-butyl phthalate (BBP)를, 내부표준물질로는 Aldrich사의 methyl tridecanoate을 각각 사용하였다.

또한 HPLC급 hexane, acetone, ether, dichloromethane을 추출용매로 사용하였으며, 컬럼 정제용 florisil은 Sigma사 제품을 사용하였다.

#### 기기분석

**GC-FID:** 재질시험용액의 정량을 위하여 검출기로 FID가 장착된 HP5890 Gas Chromatograph system (Hewlett Packard Co., USA)을 이용하였고, 사용한 column은 HP-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm, Hewlett Packard Co., USA)였다. Carrier gas로는 유속 1 mL/min의 질소를 사용하였으며, split ratio는 10:1이었다. 온도조건은 처음 1분간 150°C에서 머물다가 분당 5°C씩 승온시켜 270°C에서 다시 10분간 유지시킨 뒤, 300°C까지 분당 10°C씩 상승시켜 5분간 머무르게 하였다. 또한 주입구와 검출기의 온도는 각각 250°C와 280°C, injection volume은 1 μL였다.

**GC/MS:** GC에 의해 분석된 시험용액 중의 styrene dimer 및 trimer의 정성은 GC/MS-TIC mode를 이용하여 실시하였다. GC/MS는 Fisons사의 GC8000에 MD800 mass detector를 연결시킨 기기로, carrier gas로는 헬륨을 사용하였고, GC의 분석 조건과 동일한 column 및 온도 조건에서 splitless로 실험하였다. 또한 같은 조건에서의 SIM mode를 식품분석시 정량에 이용하였다.

#### 시험용액의 조제

**재질실험:** 먼저 재질 1g을 세절하여 20 mL tetrahydrofuran에 완전히 용해시켰다. 이렇게 만들어진 고분자 용액을 세게 교반시킨 500 mL hexane에 천천히 점적하여 고분자량체만을 석출시켰다. 그런 다음 종이 필터를 이용하여 석출물을 여과한 후 남은 hexane 용액을 감압 농축시킨 후, 다시 10 mL로 정용하여 시험용액으로 하였다(Fig. 1).

**식품의 추출 및 정제:** 시료는 50 g씩 취하되, 컵라

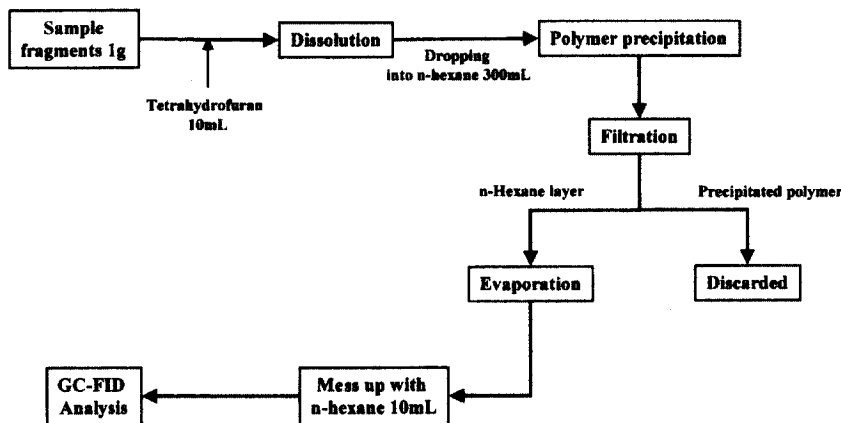


Fig. 1. Analytical method for residual styrene dimers and trimers in polystyrene packaging materials.

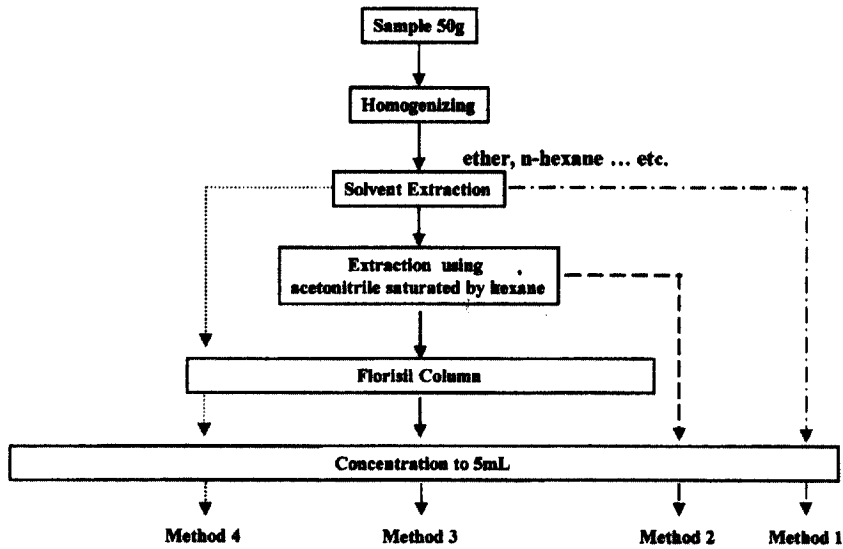


Fig. 2. Preparation method for analysis of styrene dimer and trimer in foods.

면은 용기에 표시된 조리법대로 조리하여 homogenizer로 균질화하여 사용하였다. 추출용매(각각 ether, hexane, dichloromethane, acetone/hexane 중 하나) 100 mL로 두 번 추출한 액을 합하여 용매를 감압 농축시켜 5 mL로 정용한 용액을 시험용액으로 하였다. 그러나 라면의 경우 식품 중의 지방이 함께 추출되어 나오므로, GC column의 보호와 피크 분리도 향상을 위하여 Lee등<sup>(11)</sup>이 보고한 바와같이 정제과정을 실시하였다. 우선 hexane 포화 acetonitrile 분배로 얻어진 acetonitrile 층을 hexane 5 mL로 정용하여 이를 florisil column에 loading한 후, 5% ether/hexane(v/v) 50 mL로 elution시킨 용액을 다시 5 mL로 농축하여 최종 시험용액으로 하였다(Fig. 2). 그리고 각 추출 용매와 정제 단계별 회수율을 비교함으로써 최적의 분석방법을 설정하였다.

**식품 유사용매에 의한 용출실험:** 포장 재질별, 식품별 이행 정도를 비교하기 위하여, 식품 유사용매를 이용한 용출실험을 실시하였다. 식품 유사용매로는 물, 4% 초산, 20% ethanol, n-heptane을 사용하였고, 각각 60°C에서 30분 간 용출하였으며, n-heptane의 경우는 25°C에서 60분간 용출을 실시하였다. 그러나 실제 용기의 사용 온도가 100°C에 근접하는 컵라면 용기는 용출용매가 물과 4%초산일 때 95°C에서 30분을 유지하는 것으로 하였다. 얻어진 용출액은 n-heptane의 경우 그대로 농축하였고, 그 밖의 것들은 100 mL hexane으로 두 번 추출, 농축 후, 5 mL hexane으로 정용한 것을 시험용액으로 하였다.

#### 회수율 시험

회수율 측정을 위하여 이미 컵라면 용기 재질시험을 통과하고 농도를 알고 있는 시험용액을 희석하여 Table 3(spiked level 참조)에 나타난 바와 같이 styrene dimer 및 trimer의 농도를 정하여 첨가한 후 회수율을 측정하였다. Blank 시료는 컵라면의 경우 비이커에서 조리한 것을 사용하였고, 요구르트의 경우는 업체로부터 입수한 포장 전 시료를 사용하였다. 첨가된 시료를 Fig. 2와 같이 전처리 하였으며, 각 추출 용매별, 정제 단계별 회수율을 비교함으로써 최적의 실험방법을 설정하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 재질시험

식품의 포장 재질 중의 styrene dimer와 trimer 잔존량은 식품으로의 이행량에 영향을 미치는 중요한 요인이 될 수 있다. 따라서 재질 중의 함량을 정확히 평가하는 작업은 식품으로의 이행량 결정에 있어 기초가 되는 연구라 할 수 있다.

식품 포장용 polystyrene 재질 중 styrene dimer와 trimer 함량에 대한 종전의 연구에 있어서, 일본의 Kawamura 등<sup>(9)</sup>은 재질 시료를 세절하여 cyclohexane/2-propanol(1:1) 용액에 침적하여 37°C에서 1일을 방치함으로써 재질 중 함량 결정을 시도한 바 있다. 그러나 그들이 사용한 침출 용매의 경우 styrene dimer

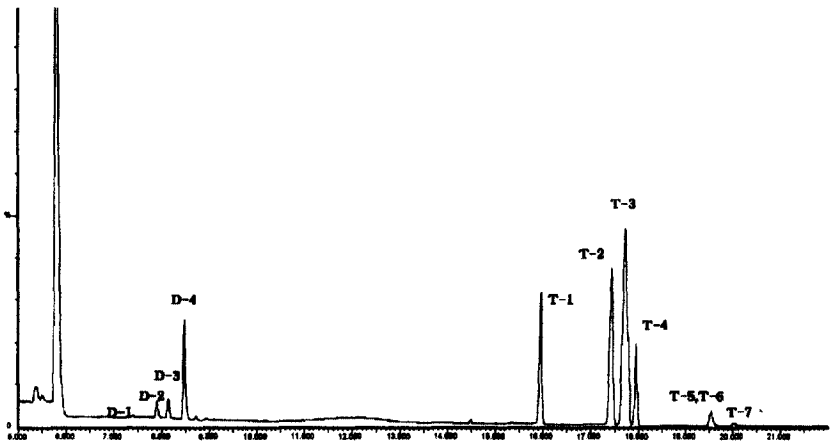


Fig. 3. GC/MS-TIC (total ion chromatogram) of cup noodle container extract.

D-1: 1,3-Diphenylpropane, D-2: cis-1,2-Diphenylcyclobutane, D-3: 2,4-Diphenyl-1-butene, D-4: trans-1,2-Diphenyl-cyclobutane, T-1: 2,4,6-Triphenyl-1-hexene, T-2: 1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin, T-3: 1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl) tetralin(2 isomers), T-4: 1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin, T-5: Triphenylcyclohexane, T-6: Styrene trimer(unknown isomer), T-7: Styrene trimer(unknown isomer)

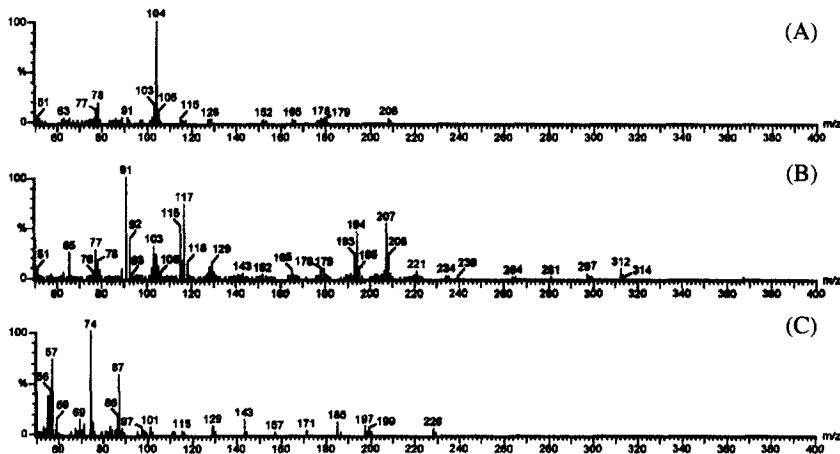


Fig. 4. Representative mass spectra of styrene dimer(A), trimer(B) and internal standard(C).

A: cis-1,2-Diphenylcyclobutane(D-2), B: 2,4,6-Triphenyl-1-hexene(T-1), C: Methyl tridecanoate

와 trimer는 잘 녹일 수 있으나 polystyrene 자체는 녹일 수 있는 용매가 아니므로, 고분자 연쇄에 엉켜있는 부분까지 완전한 재질 중의 함량을 결정하기에는 부족함이 있는 용매로 사료되었다. 따라서 본 연구에서는 polystyrene 자체를 완전히 녹일 수 있는 용매 중에서 고분자 연쇄를 최대한 확장시킬 수 있는 용매인 tetrahydrofuran을 이용하여 Fig. 1과 같이 재질 시험용액을 조제하였다. 본 연구에서 채택한 이러한 실험 방법은 styrene dimer와 trimer 분석에 불필요한 고분자량체 만을 선택적으로 제거하는 것이 가능하므로 좀 더 합리적인 재질 시험 방법으로 사료된다.

Fig. 3은 Fig. 1에 따라 제조한 컵라면 재질시험 용

액을 GC/MS 분석하여 얻은 total ion chromatogram (TIC)이고 요구르트병의 재질시험용액에 대하여도 비슷한 패턴의 chromatogram이 얻어졌다. 피크들은 styrene dimer와 trimer의 경우 1,3-diphenylpropane(피크 D-1)을 제외한 나머지 물질들은 시판되는 표준품이 없어 GC/MS 프로그램 상의 library에서도 발견되지 않으므로, 얻어진 각각의 mass spectrum들(Fig. 4)을 기존의 문헌<sup>(8,9)</sup>과 비교함으로써 정성할 수 있었다. 특히 피크 D-2와 D-4의 경우  $m/z = 104, 208$ 에서 특성 ion을 갖는 동일한 mass spectrum을 보였는데, 이는 두 가지 입체 이성질체인 1,2-diphenylcyclobutane로 판단되었다. 이미 두 물질이 1:3의 비율로 존재하며

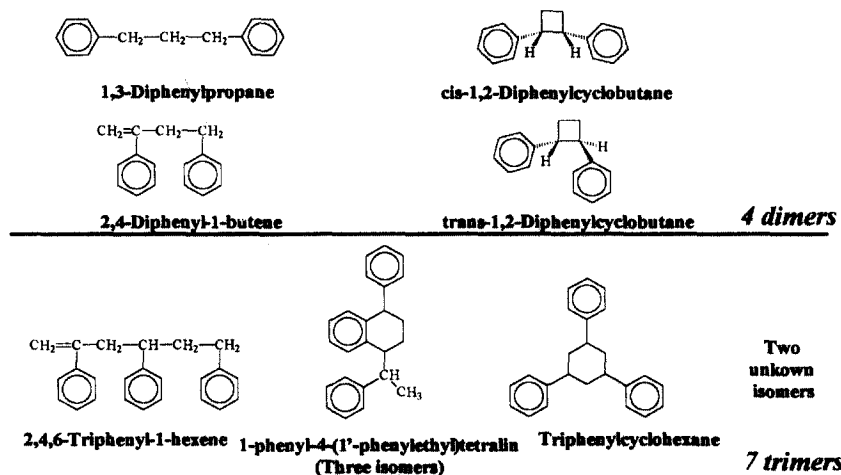


Fig. 5. Chemical structures of styrene dimers and trimers.

비극성 column에서 cis형이 trans형보다 앞에 나타난다는 사실이 보고된 바 있으므로<sup>(12)</sup>, 본 연구에서도 전자가 cis형태임을 또한 알 수 있었다. 마찬가지로 trimer의 경우도 한 집단의 동일 mass spectrum(특성 ion  $m/z = 91, 105, 129, 207$ )을 갖는 피크(T-2, T-3, T-4)들이 관찰되었는데, 이 또한 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin의 이성질체들을 확인할 수 있었다. 아직까지 구조가 확인되지 않았으나 그 분자량으로부터 styrene trimer임이 예상되는 피크 T-6, T-7과 기타 피크들에 대하여도 동일한 비교를 통하여 그들이 각각 2,4-diphenyl-1-butene(피크 D-3), 2,4,6-triphenyl-1-hexene(피크 T-1),

triphenyl cyclohexane(피크 T-5)임을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 분석하려는 styrene 잔류물은 dimer 4종, trimer 7종으로 압축되었고, 각각의 구조와 분자량 및 화학명을 Fig. 5와 Table 1에 정리하였다.

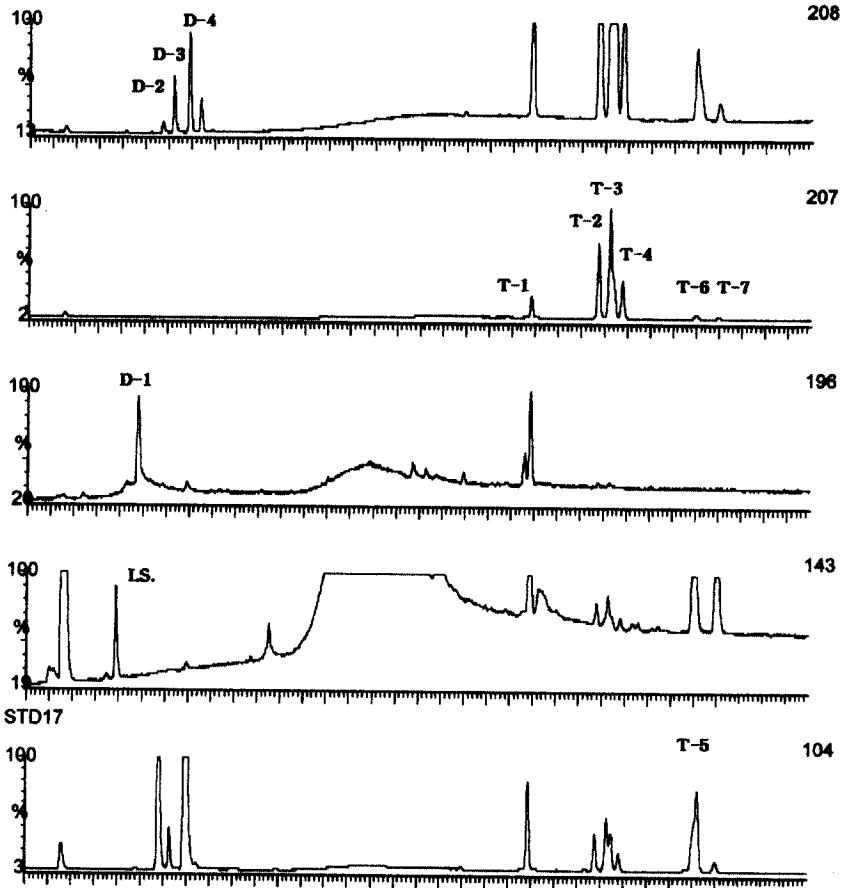
재질시험 용액 중 styrene dimer 및 trimer의 농도 결정은, 현 시점에서는 시판되는 표준물질이 없는 관계로, 문헌에 GC-FID 상에서 반응정도가 유사하다고 보고된<sup>(7,8)</sup> 1,3-diphenyl propane과 benzyl-n-butyl phthalate를 각각 styrene dimer와 trimer의 정량을 위한 표준물질로 이용하였다. 검량선은 각 농도에 대해 피크 면적을 plot하여 작성하였으며, 두 화합물 모두에서

Table 1. List of investigated styrene dimers and trimers with their characteristic fragment ions

Code	Chemical Name	Molecular weight	Characteristic fragment ion	Selected ion for SIM analysis
D-1	1,3-Diphenylpropane	196	92,105,196	196
D-2	cis-1,2-Diphenylcyclobutane	208	104,208	208
D-3	2,4-Diphenyl-1-butene	208	91,208	208
D-4	trans-1,2-Diphenylcyclobutane	208	104, 208	208
T-1	2,4,6-Triphenyl-1-hexene	312	91, 117, 194, 207, 312	207
T-2	1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin	312	91, 105, 129, 207, 312	207
T-3	1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin (2 isomers)	312	91, 105, 129, 207, 312	207
T-4	1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin	312	91, 105, 129, 207, 312	207
T-5	Triphenylcyclohexane	312	91, 104, 208, 312	104
T-6	Styrene trimer (unknown isomer)	312	91, 129, 207, 312	207
T-7	Styrene trimer (unknown isomer)	312	91, 129, 207, 312	207

Table 2. Residual contents of styrene dimers and trimers in polystyrene cup noodle container and yogurt bottle

Sample	Residues ( $\mu\text{g/g}$ )											Sum of Residues ( $\mu\text{g/g}$ )		
	D-1	D-2	D-3	D-4	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6	T-7	Dimers	Trimers	Total
Cup noodle container	51.5	135.3	133.5	670.3	1603.6	2613.1	5247.5	1503.2	163.6	652.9	251.1	990.6	12035.0	13025.6
Yogurt bottle	102.4	54.3	472.4	203.5	1537.4	2422.5	5108.0	1359.8	143.0	615.1	226.6	832.6	11412.4	12245.0



**Fig. 6. GC/MS-SIM(selected ion mode) chromatograms of cup noodle container extract.**

D-1: 1,3-Diphenylpropane, D-2: cis-1,2-Diphenylcyclobutane, D-3: 2,4-Diphenyl-1-butene, D-4: trans-1,2-Diphenyl-cyclobutane, T-1: 2,4,6-Triphenyl-1-hexene, T-2: 1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin, T-3: 1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl) tetralin(2 isomers), T-4: 1-Phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin, T-5: Triphenylcyclohexane, T-6: Styrene trimer(unknown isomer), T-7: Styrene trimer(unknown isomer)

상관계수 0.999 이상의 좋은 직선의 경향을 얻을 수 있었다.

Table 2는 컵라면 용기와 요구르트 용기 두 가지 재질의 시험용액을 GC-FID로 정량 분석한 결과이며, Table 2에서 볼 수 있듯이 EPS가 원료인 컵라면 용기나, HIPS가 원료인 요구르트 용기 모두에서 약 12,000 µg/g 이상의 styrene dimer와 trimer가 재질 중에 잔존하고 있는 것으로 확인되었고, 총량에 있어서는 재질에 관계없이 비슷한 수준이었다. 또한 styrene trimer는 dimer의 약 10배 이상 존재하였고, 그 중에서도 T-3인 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin이 대부분을 차지함을 알 수 있었다.

식품 중 styrene dimer 및 trimer의 정량

**분석 조건:** 일반적으로 내분비계 장애물질들은 매우 낮은 농도(ppb, ppt 수준)에서도 내분비계 교란 효과를 나타내는 것으로 논란이 되고 있다. 따라서 노출량 조사를 위하여 식품 중 함량을 정량할 때에는 극미량의 농도까지 분석하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 내부표준물질을 이용한 GC/MS-SIM(selected ion mode)을 이용함으로써 정량한계를 최대한 낮추고자 하였다. 내부표준물질로는 methyl tridecanoate을 사용하였으며, Table 1에 나타난 대로, 각 dimer와 trimer의 mass spectrum들로부터 분자량과 피크 intensity가 비교적 큰 fragment ion들을 선정하여 정량에 이용하였다. Fig. 6은 비이커에서 조리한 라면시료에 컵라면 용기 재질시험 용액을 첨가한 후 Fig. 2의 방법 3에 따라 전처리한 시험용액을 선택한 m/z에서 SIM으로 분석한

대표적인 chromatogram을 나타낸 것이다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 SIM을 이용함으로써 피크들의 분리도 및 감도가 향상된 것을 알 수 있었다.

검량선은 내부표준물질(selected ion  $m/z = 143$ )의 피크 면적과 각 styrene dimer, trimer(selected ion  $m/z = 104, 196, 207, 208$ )의 피크 면적 간의 비에 대하여 각각의 농도를 plot 하여 작성하였다. GC-FID와는 달리 이 경우 각각의 선택된 이온들의 강도가 모두 다르므로 검량선 또한 모든 styrene dimer와 trimer에 대하여 작성하였다. 그 결과 모든 검량선들로부터 0.999 이상의 좋은 직선의 경향이 확인되었다.

본 실험의 검출한계는 재질 시험용액을 희석하여 분석한 결과 중 각각의 styrene dimer와 trimer에 대하여

signal/noise 비 3에 해당하는 농도로 결정하였으며 D-1, D-2, D-3 및 D-4의 검출한계는 각각 17.2, 45.1, 8.9 및 13.4  $\mu\text{g/L}$ 였으며 T-1에서 T-7의 검출한계는 각각 3.2, 5.2, 10.5, 3.0, 10.9, 87.0 및 83.7  $\mu\text{g/L}$ 이었다. 재현성 시험을 위해 일정농도의 동일한 재질 시험용액을 5회 분석하여 얻어진 peak area ratio와 농도를 검토하였다. 시험결과 dimer 4종, trimer 7종에 대하여 peak area ratio의 경우 약 4~19% 정도에서 재현성의 편차가 발생하였으며, 이를 총 농도로 환산하면 8.8%의 표준편차를 나타내었다.

**추출 용매별 회수율:** 식품으로부터 styrene dimer와 trimer를 추출하기 위한 최적의 용매를 결정하기 위하여 여러 가지 용매에 대한 첨가 회수 실험을 실시하

Table 3. Recovery(%) for each solvent used in extracting cup noodle sample under method 3 in Fig. 2

Solvent Styrene	Spiked* (ppb)	Hexane		Dichloromethane		Ether		Acetone/Hexane(1:1)	
		Detected (ppb)	Recovery (%)	Detected (ppb)	Recovery (%)	Detected (ppb)	Recovery (%)	Detected (ppb)	Recovery (%)
D-1	86	13	15	45	52	69	80	18	21
D-2	226	106	47	138	61	163	72	186	82
D-3	223	71	32	78	35	91	41	136	61
D-4	1117	380	34	443	40	555	50	808	72
T-1	2673	339	13	1262	47	1016	38	1369	51
T-2	4355	1564	36	1657	38	1908	44	2538	58
T-3	8746	3247	37	3424	39	3875	44	5331	61
T-4	2505	993	40	1071	43	1218	49	1620	65
T-5	273	163	60	140	51	148	54	195	72
T-6	1088	467	43	478	44	611	56	819	75
T-7	419	103	24	202	48	156	37	339	81
Dimers	1652	569	34	703	43	877	53	1148	70
Trimers	20059	6875	34	8233	41	8933	45	12212	61
Total	21711	7444	34	8937	41	9810	45	13361	62

\*Cup noodle container extract diluted.

Table 4. Recovery(%) for each solvent used extracting yogurt sample under method 1 in Fig. 2

Solvent Styrene	Spiked* (ppb)	Hexane		Dichloromethane		Ether		Acetone/Hexane(1:1)	
		Detected (ppb)	Recovery (%)	Detected (ppb)	Recovery (%)	Detected (ppb)	Recovery (%)	Detected (ppb)	Recovery (%)
D-1	26	9	33	12	47	27	104	8	33
D-2	68	32	47	44	65	34	51	52	76
D-3	67	70	104	73	109	77	115	81	121
D-4	335	233	70	257	77	332	99	251	75
T-1	802	549	68	584	73	562	70	621	77
T-2	1307	832	64	867	66	923	71	926	71
T-3	2624	1563	60	1805	69	1814	69	1923	73
T-4	752	464	62	546	73	518	69	618	82
T-5	82	58	71	66	80	64	78	71	86
T-6	326	231	71	284	87	255	78	275	84
T-7	126	95	75	125	99	92	73	105	83
Dimers	496	344	69	386	78	471	95	393	79
Trimers	6019	3792	63	4277	71	4230	70	4538	75
Total	6515	4135	63	4663	72	4700	72	4931	76

\*Cup noodle container extract diluted.

**Table 5. Recovery(%) for each method in Fig. 2 on cup noodle extraction**

Method Styrene	Spiked*(ppb)	Method 1		Method 2		Method 4	
		Detected(ppb)	Recovery(%)	Detected(ppb)	Recovery(%)	Detected(ppb)	Recovery(%)
D-1	86	110	128	25	29	45	53
D-2	226	207	92	95	42	188	83
D-3	223	259	116	125	56	211	94
D-4	1117	1087	97	662	59	997	89
T-1	2673	3243	121	1479	55	2201	82
T-2	4355	4353	100	2440	56	3518	81
T-3	8746	8827	101	5136	59	7063	81
T-4	2505	2677	107	1577	63	2217	89
T-5	273	268	98	215	79	248	91
T-6	1088	1456	134	637	59	1021	94
T-7	419	509	121	401	96	382	91
Dimers	1652	1663	101	907	55	1441	87
Trimers	20059	21333	106	11885	59	16650	83
Total	21711	22996	106	12792	59	18091	83

\*Cup noodle container extract diluted.

였다. Blank 식품으로는 비이커에서 조리한 컵라면과 업체로부터 입수한 포장 전 요구르트를 유리병에 보관하며 사용하였으며, 컵라면 용기 재질 시험용액을 회석하여 첨가, 그 회수율을 검토하였다. 추출용매로는 용매의 극성 정도에 따라 ether, dichloromethane, hexane을 사용하였고, 액-액 추출 시 층 분리의 향상을 위하여 acetone/hexane(1:1) 용액도 함께 실험하였다. 우선 표준물질 첨가 시료를 컵라면의 경우 Fig. 2의 method 3에 따라 전처리하여 분석하였으며, 요구르트의 경우 지방정제 과정이 필요없는 method 1에 따라 전처리하여 분석하였으며 결과를 Table 3과 Table 4에 나타내었다. Styrene dimer와 trimer는 비극성의 구조를 가지므로 hexane을 사용하였을 때 가장 높은 회수율이 예상되어졌으나, 실제 라면의 경우 acetone/hexane(1:1) 용액이 가장 좋은 회수율을 나타내는 추출용매임을 알 수 있었다. 이는 시료를 hexane으로 추출하였을 때, 시료와 추출용매 사이에 존재하는 에멀전이 styrene dimer와 trimer의 추출을 방해하기 때문으로 생각되어진다. 또한 요구르트는 ether를 제외한 모든 용매에서 70%이상의 회수율이 얻어졌다. 따라서 styrene dimer 및 trimer의 분석 시, 추출용매로는 acetone/hexane(1:1) 용액이 두 가지 식품 모두에서 효과적임을 알 수 있었다.

**정제 방법별 회수율:** 컵라면의 경우 Table 3의 결과에서와 같이 30~60%의 낮은 회수율이 관찰된 것은 라면 중 지방성분을 제거하기 위하여 실시한 정제 과정에서 발생하는 손실로 생각되어, 각 정제 방법별 회수율을 아울러 검토하였다. Fig. 2에 나타낸 라면 시료의 정제 방법 중 표시된 각각의 방법별 회수율을 Table

5에 나타내었다. 이때 추출 용매로는 회수율이 가장 좋았던 acetone/hexane(1:1)용액을 사용하였다. Hexane 포화 acetonitrile 분배나 florisil column과정을 거치지 않고 농축된 추출 용액을 그대로 분석한 전처리 방법 1의 경우 매우 높은 회수율이 관찰되었다. 그러나 GC 분석 상 지방을 그대로 injection 하는 것은 column 이나 detector에 무리가 따르므로 별도의 정제 과정 검토가 필요하였다. Table 5에서 볼 수 있듯이 각각의 정제 과정을 거침에 따라 회수율이 감소하였는데 특히 hexane 포화 acetonitrile 용매로 추출한 경우(method 2 in Fig. 2) 회수율이 급격히 떨어짐을 알 수 있었다. 반면, 추출 후 florisil column으로만 정제한 경우, 효과적으로 지방이 제거됨을 알 수 있었고, 그때의 회수율 또한 약 80% 정도로 양호하게 나타났다. 요구르트 시료의 경우에는 지방 함량이 낮으므로 이러한 정제과정은 필요 없었다.

**용출실험:** Table 6은 4가지 식품유사 용매를 사용하여 용출한 실험 결과이다. 용출용매 1L당 용출되는 styrene dimer 와 trimer의 양은 비극성 유기용매인 heptane일 때 가장 높은 수준이었다. 앞서의 재질실험에서와 같이 요구르트 용기나 컵라면 용기 모두 비슷한 수준의 styrene dimer와 trimer가 재질 중에 잔존하였으나, 본 용출실험 결과에서는 발포 polystyrene 보다는 내충격성 polystyrene의 경우가 더 많은 양이 용출되었다. 이는 내충격성 polystyrene에 함유된 상당량의 고무성분이 용매에 의하여 팽윤되어, styrene dimer 와trimer의 용출을 돕기 때문으로 생각되어졌다. 그러나 95°C에서 물로 용출시켰을 때에는 컵라면 용기에서만 D-1, D-3, T-1, 및 T-3이 1.4~4.9 µg/L 정도로 용



Table 6. Migration of styrene dimers and trimers from cup noodle container and yogurt bottle into food simulants

Sample Simulant Condition	Residues ( $\mu\text{g/L}$ )							
	Cup noodle container				Yogurt bottle			
	Water 95°C/30 min	4% Acetic acid 95°C/30 min	20% Ethanol 60°C/30 min	Heptane 25°C/60 min	Water 60°C/30 min	4% Acetic acid 60°C/30 min	20% Ethanol 60°C/30 min	Heptane 25°C/60min
D-1	ND*	ND	ND	7.7	ND	ND	ND	18.4
D-2	ND	16.5	ND	25.2	ND	ND	ND	125.8
D-3	1.6	4.0	ND	17.6	ND	ND	ND	48.1
D-4	4.3	18.3	ND	71.4	ND	ND	ND	355.8
T-1	4.6	3.2	8.0	84.6	ND	109.4	26.7	986.2
T-2	2.3	3.4	2.5	99.0	ND	85.4	31.8	1655.4
T-3	4.9	6.9	4.7	217.2	ND	176.4	56.2	3320.0
T-4	1.4	1.5	ND	67.4	ND	53.8	16.9	3.4
T-5	ND	ND	ND	17.6	ND	10.9	0.2	244.8
T-6	ND	ND	ND	27.8	ND	34.6	ND	442.8
T-7	ND	ND	ND	13.2	ND	ND	ND	165.6
Dimers	5.9	39.7	ND	121.9	ND	ND	ND	548.1
Trimers	13.2	15.0	15.2	526.8	ND	425.0	114.7	7794.6
Total	19.1	54.7	15.2	648.7	ND	425.0	114.7	8342.7

\*ND: not detectable.

출되었는데, 이는 용출 온도가 상대적으로 높았기 때문으로 생각되었다<sup>(1)</sup>.

## 요 약

Polystyrene 재질 용기 내에 함유된 내분비계 장애추정물질인 styrene dimer 및 trimer의 분석 방법과 컵라면 및 요구르트 용기로부터 식품으로 이행된 양을 정량하는 방법을 연구하였다. 재질 중 styrene dimer와 trimer의 함량은 재질을 tetrahydrofuran에 완전히 용해시킨 후, n-hexane을 이용하여 고분자량체 만을 석출시켜 제거함으로써 효과적으로 분석할 수 있었다. 식품분석은 GC/MS SIM-mode를 이용함으로써 3.2~87 ppb 수준의 미량 분석이 가능하였다. 라면시료 중의 지방제거 과정으로는 florisil 방법만에서 80% 정도의 높은 회수율을 나타내었고, hexane 포화 acetonitrile 분배 과정을 거치면서 상당히 감소하였다. 그러나 요구르트의 경우, 전처리 과정 없이 추출 후 곧바로 분석이 가능하였다. 추출 용매로는 라면에 대하여는 acetone/hexane(1:1)용액이 80% 정도의 가장 높은 회수율을 보였으며, 요구르트에 대하여는 acetone/hexane(1:1)뿐만 아니라, dichloromethane, ether등에서 비슷한 회수율이 얻어졌다.

## 감사의 글

본 연구는 1999년 보건복지부 보건의료 기술연구개발사업(관리 번호 HMP-99-F-06-0001, 식품중 각종 위해 요인의 위해성 평가와 관리 방안 수립에 관한 연구)에 의하여 수행된 연구 결과의 일부로서 이에 깊이 감사드립니다.

## 문 헌

- Lickly, T.D., Breder, C.V. and Rainey, M.L. A model for estimating the daily dietary intake of a substance from food-contact article: Styrene from polystyrene food-contact polymers, *Regulatory Toxicol. Pharm.* 21: 406-417 (1995)
- Tawfik, M.S. and Huyghebaert, A. Polystyrene cups and containers: Styrene migration, *Food Add. Contam.* 15: 592-599 (1998)
- Lickly, T.D., Lehr, K.M. and Welsh, G.C. Migration of styrene from polystyrene foam food-contact articles, *Food Chem. Toxicol.* 33: 475-481 (1995)
- Durst, G.L. and Laperle, E.A. Styrene monomer migration as monitored by purge and trap gas chromatography and sensory analysis for polystyrene containers. *J. Food Sci.* 55: 522-524 (1990)
- Varner, S.L. and Breder, C.V. Headspace sampling and gas chromatographic determination of styrene migration from food-contact polystyrene cups into beverage and food simulants. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64: 1122-1130 (1981)
- EPA Special report on environmental endocrine disruption. pp. 116-120, Risk Assessment Forum. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA (1997)
- Kwon, K.S., Jeon, D.H. and Lee, K.H. About endocrine disrupter in food container and packaging materi-

- als. Food Sci. Industry 32: 51-60 (1999)
8. Kawamura, Y., Sugimoto, N., Takeda, T. and Yamada, T. Identification of unknown substances in food contact polystyrene. J. Food Hygin. Soc. Japan 39: 110-119 (1998)
  9. Kawamura, Y., Kawamura, M., Takeda, T. and Yamada, T. Determination of styrene dimers and trimers in food contact polystyrene. J. Food Hygin. Soc. Japan 39: 199-212 (1998)
  10. Kawamura, Y., Nishi, K., Sasaki, H. and Yamada, T. Determination method of styrene dimers and trimers in instant noodles contained in polystyrene cups. J. Food Hygin. Soc. Japan 39: 310-314 (1998)
  11. Lee, K.H., Jang, Y.M., Kwak, I.S., Yoo S.S., Kim, K.M., Choi, B.H. and Lee C.W. Analysis of styrene dimer and trimer in cup noodle containers. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 931-937 (1999)
  12. Kurze, V.J., Stein, D.J., Simak, P. and Kaser, R. Anal. Chem. 12: 25-41 (1970)
- 
- (2000년 8월 1일 접수)